

平成 29 年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

研究課題名：化学物質のヒト健康リスク評価における(定量的)構造活性相関および
カテゴリーアプローチの実用化に関する研究

分担研究課題名：QSAR を用いた新たな変異原性予測ストラテジーの開発に関する研究

研究分担者： 杉山圭一 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長

研究要旨

作用機序に関する QSAR(定量的構造活性相関)、リードアクロス(類推)と専門家知識の組合わせに基づくワークフローを用いて、ユーザーが透明性のある決定を下せるような 4 種類の異なるシナリオを検討した。その結果、OASIS TIMES(肝代謝シミュレーター)エームス(Ames 変異原性試験)モデルと、OECD(経済協力開発機構)ツールボックス内の厳選された類似物質に基づくリードアクロス解析とが一致した予測を示す場合には、最終的な判断を下すために専門家の意見は必ずしも必要とは言えないと考えられた。ただし、文献資料から類似物質のリードアクロスのセットを拡大してエビデンスに基づく重要性を加味し、類似物質と標的化学物質との間のエンドポイント特異的な類似性に関して合理的な説明を提供することなどの観点から、専門家の意見は有用ではある。TIMES エームスモデルとリードアクロスとの予測が一致しない場合には、最終的な判定の査定のために専門家の意見が不可欠と考えられた。実験データの正当性/妥当性の査定に加えて、それらの新規性、ガイドラインとなるプロトコールに準拠した S9 代謝活性化の有無、細胞毒性などの査定において専門家の評価は有益であり、専門家知識は評価において妥当性付与するものと思われる。

A. 研究目的

エームス試験（微生物復帰突然変異試験）は Bruce Ames と共同研究者らによって 1970 年代に開発されたこの試験法で、変異と発がん性との関連を解析する上で極めて重要な役割を果たしている。エームス試験は、迅速かつ安価であることに加えて、生体動物モデルでないため、3R の原理(代替、削減、改善)にも適合しているという利点も有する。

実試験データが得られない場合、一般的に *in silico* モデリングの結果が使用される。異なる QSAR モデルによる変異原性予測の能力を実証

する多くの試みがなされているが、これらは 2 種類のアプローチに大別される。化学構造と生物学的活性との関係を統計学的に記述するモデルが 1 つ、また別のモデルは作用機序に基づく。

本研究では、国立医薬品食品衛生研究所のスクリーニング演習に採用された全ての QSAR によりエームス試験偽陰性と判定された 21 種類の物質を被検物質として、作用機序に関する QSAR、リードアクロス(類推)と専門家知識の組合わせに基づくワークフローを用いた各種シナリオを検討した。

B. 研究方法

1. TIMES エームス変異原性モデル

OASIS TIMES エームス変異原性モデルは、同一のモデリング・プラットフォーム上に、代謝活性化のシミュレーターと親化学物質並びにそれらの代謝産物の反応性を査定するモデルが内包されている。したがって、本モデルは S9 による代謝活性化のある場合と無い場合の変異原性の予測に使用できる特徴を有する。

2. OECD QSAR ツールボックス

OECD QSAR ツールボックスは、有機化学物質の危険有害性の査定に必要とされる毒性データにおけるギャップを満たすために、政府、産業界等の関係者により利用されることを意図したソフトウェアアプリケーションである。OECD QSAR ツールボックスは、単独のソフトウェアアプリケーションの中に、リードアクリル解析と傾向解析の様なカテゴリーアプローチのアプリケーションに関する「包括的な」ツールを含む。ユーザーはサーチエンジンを使用し、構造情報が定義され、かつ条件指定されたエンドポイント情報を持つ化学物質を収集できる。

3. 異なる作用機序ツールを統合したワークフロー

本研究において提案されるワークフローは、OASIS TIMES エームス変異原性モデル、リードアクリル解析と専門家の意見を統合している。これらを標的化学物質に適用し、エームスエンドポイントに関連する作用機序情報を統合した。

4. スクリーニング演習

7790 種類の化学物質のエームス変異原性を予測するために (Q)SAR が適用された。当該化学物質中、エームス実測データが陽性の 21 種の物質は、スクリーニング演習に適用された全てのモデ

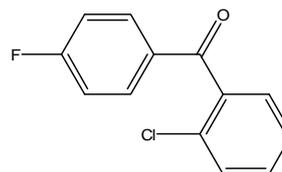
ルによって陰性と予測された。本研究において提案される作用機序ワークフローにより、これら 21 種の化学物質のエームス変異原性を検討した。提案するワークフローがエームス変異原性効果の予測について透明性のある合理的説明を提供する能力を有することを実証するために、偽陰性リストから 3 種類の物質 (CAS: 1806-23-1、CAS: 609-60-9 と CAS: 765-63-9) を選択しモデルケースとして使用した。

C. 研究結果

1. TIMES エームスモデルとリードアクリルの予測が一致する調査事例

化学物質 ID :

- CAS 登録番号 : 1806-23-1
- 化学名 : 2-クロロ-4-フルオロベンゾフェノン (2-chloro-4-fluorobenzophenone)
- 2D 構造 :



OASIS TIMES エームスモデルによる予測 :

エームス変異原性を誘発させる構造アラートは親化学物質またはその代謝産物に関して検出されていない。従って、TIMES エームスモデルにより、2-クロロ-4-フルオロベンゾフェノンは S9 代謝活性化の存在下と非存在下において陰性と予測される。

リードアクリル解析による予測 :

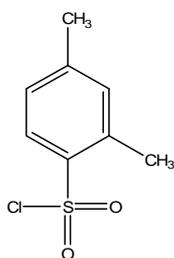
2-クロロ-4-フルオロベンゾフェノンの構造的類似物質は全てエームス陰性との予測であった。TIMES とリードアクリルによる一致した予測は、標的および 4 種類の類似物質について報告されているエームス実データとも一致しており、これらに基づき 2-クロロ-4-フルオロベンゾフェノンは

エームス試験において非変異原性であると判定される。

2. OASIS TIMES エームスモデルとリードアクロスの予測が一致するが専門家による正当化を必要とする調査事例

化学物質 ID :

- CAS 登録番号 : 609-60-9
- 化学名 : 2,4-ジメチルベンゼンスルホニルクロリド (2,4-dimethylbenzenesulfonyl chloride)
- 2D 構造 :



OASIS TIMES エームスモデルによる予測 :

2,4-ジメチルベンゼンスルホニルクロリドの陽性予測は S9 代謝活性化存在下で認められる。

リードアクロス解析による予測 :

選抜された類似物質の一つである塩化トシルは、エームス実データが陽性であることが検出される。ただし塩化トシルと他の 2 種類の類似物質に関して見出される実験データの間には矛盾が存在する。

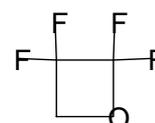
専門家による正当化 :

溶媒の DMSO により変異原性の付加体が形成される塩化トシルは、同条件下ではエームス試験において陽性である。これは、溶媒としてエタノールが使用されたエームス試験において塩化トシルは陰性であるとの事実によって支持される。すなわち、標準的な試験条件が使用される場合には、エームス試験において塩化トシルは陰性を示す。リードアクロス解析において、DMSO との相互作用により得られた陽性のエームスデータは棄却されるべきである。

3. TIMES エームスモデルとリードアクロスの予測が一致しない調査事例

化学物質 ID :

- CAS 登録番号 : 765-63-9
- 化学名 : 2,2,3,3-テトラフルオロオキシタン (2,2,3,3-tetrafluorooxetane)
- 2D 構造 :



OASIS TIMES エームスモデルによる予測 :

2,2,3,3-テトラフルオロオキシタンの変異原性を予測するために、S9 代謝活性化を伴う TIMES エームスモデルが適用された。反応性と代謝(に関する情報)を共有する TIMES とツールボックスにより作成される代謝物は存在しない。親化学物質において構造アラートが検出されないため、TIMES エームスモデルは陰性の予測を提供する。この結果は、*S. typhimurium* において観察された陰性のエームスデータと一致する。なお、TIMES エームスモデルは *S. typhimurium* の全ての系統における変異原性を予測するように構築されており、*E. coli* におけるエームス変異原性をシミュレートできないことは留意する必要がある。

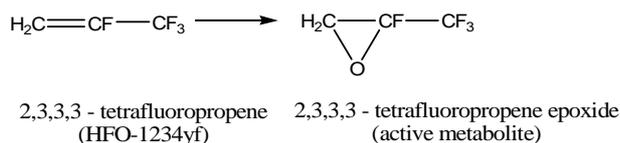
リードアクロス解析による予測 :

ツールボックス内にエームスデータが陽性である構造的類似物質の一つが検出される。この類似物質(2-クロロオキシラン)の陽性エームスデータに従って、2,2,3,3-テトラフルオロオキシタンは陽性と指定される。

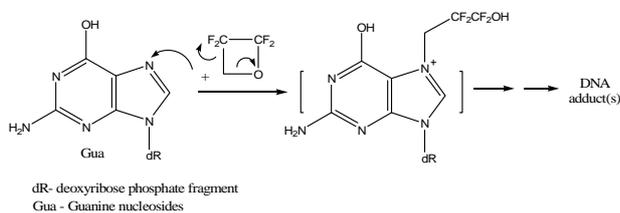
専門家による正当化 :

化学物質の 2,3,3,3-テトラフルオロプロペン (2,3,3,3-tetrafluoropropene) は S9 の存在下でのみ *Salmonella typhimurium* 系統 TA100 と *E.*

coli (WP2 *uvrA*)を用いた細菌変異原性試験において陽性であることが報告されている。この陽性反応には、同化学物質のエポキシドへの代謝活性化が指摘されている。



2,3,3,3-テトラフルオロプロペンと同様に、標的化学物質 2,2,3,3-テトラフルオロオキセタンでも求電子性と、CH₂-O 結合のヘテロシス開裂により部分的にフッ素化されたオキセタンとエポキシドの開環 DNA アルキル化能力が、電子求引性の環状炭素と結合したフッ素(または塩素)原子の導入により向上される可能性が存在する。



別の化学物質の 2-メチル-3,3,3-トリクロロメチルプロピレン(CAS: 16387-26-1)の酸化物も、標的化学物質と 2,3,3,3-テトラフルオロプロペンのエポキシドに構造的類似性を有し、S9 代謝活性化を伴わないエームス変異原性試験において陽性であることが報告されている。

以上、作用機序の面から正当化できる類似物質の陽性のエームス実験データに基づき、2,2,3,3-テトラフルオロオキセタンはエームス陽性と判定される。

D. 考 察

OASIS TIMES エームスモデルと、OECD ツールボックス内の類似物質に基づくリードアク

ロス解析とが一致した予測を示す場合には、最終的な決定を下すために専門家の意見は必ずしも必要でないと考えられた。しかし、文献資料から類似物質のリードアクロスのセットを拡大したり、類似物質と標的化学物質との間のエンドポイント特異的な類似性に関して合理的な説明を提供するなど、専門家の意見は有用と考えられる。

TIMES エームスモデルとリードアクロスとの予測が一致しない場合には、最終的な効果の査定のために専門家の意見が不可欠となる。標的エンドポイントに関して、専門家は新規性、S9 代謝活性化の有無、ガイドラインプロトコールへの準拠、細胞毒性などの判定に用いられた実験データの正当性/妥当性を評価する。収集された全ての作用機序に関する証拠を評価後に、専門家は最終的な判定についての結論を提供する。陽性の結論が出される場合には、最終的な効果をもたらす原因となるプロセスの正当化に、作用機序に関する知見は重要である。

E. 結 論

作用機序に関する QSAR、専門家知識とリードアクロス解析の組み合わせは、重要性に基づく十分な評価を提供し、最終的な予測に関してユーザーが妥当性ある判断を下すことを支援できることが示唆された。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし